

- (4) BREHM, H.-P.; KRELL, E.: Bestimmung des Kostenverlaufs von Molkereiabteilungen. VIII. Teil. Milchwissenschaft 30: 614, 1975
- (5) BUNT, B.P.: The energy used by packaging and its minimisation. J. Soc. Dairy Technol. 28: 136, 1975
- (6) FLINK, J.M.: A simplified cost comparison of a freeze-dried food with its canned and frozen counterparts. Food Technol. 31: 50, 1977
- (7) SEARLE, C.R.; WINTER, M.L.: Energy and Fish Production. Paper 2 of Fishing Industry Energy Conservation Conference, Seattle/USA, 26./27.10.1981
- (8) BRANDENBURG, W.; KRÄMER, H.: Industrielle Fischverarbeitung. Leipzig: VEB Fachbuchverlag, 1967
- (9) LORENTZEN, G.: Food from the seas. Int. J. Refrig. 4 (6): 315, 1981
- (10) LANGE, K.: Einsparung von Energie in der Fischindustrie (Konferenz in Seattle 26./27.10.1981). Inf. Fischw. 29: 32, 1982

W. Flechtenmacher
Institut für Biochemie und Technologie
Hamburg

Vorkommen und Bedeutung Eiweiß-abbauender Bakterien an Seefischen

Die Bedeutung Eiweiß-abbauender Bakterien (Proteolyten) für den Frischegrad bzw. Verderb von Fischen und Fischwaren ist in den meisten Fällen nur in groben Zügen bekannt. Noch weniger Erkenntnisse gibt es bezüglich der Frage, ob es möglich ist, den Anteil der Proteolyten an den jeweiligen bakteriellen Verderbsfloren als Indikator für bestimmte Qualitätszustände zu verwenden.

Diesen Fragen gingen wir bei eislagerndem ganzem Seefisch nach, um die gerade hier nur sehr begrenzte Möglichkeit der mikrobiologischen Qualitätsbeurteilung gegebenenfalls durch einen aussagefähigen Zusatztest zu erweitern.

Da wir beim Nachweis proteolytischer Aktivitäten Fischeiweiß - und nicht wie allgemein üblich Casein oder Gelatine - als spezifisches Bezugssubstrat verwenden wollten, die Ergebnisse aber von der jeweiligen Methode abhängen, war es nötig, zunächst ein geeignetes Testmedium zu entwickeln und die mit ihm zu erzielenden Ausbeuten mit denen zu vergleichen, die auf den traditionellen Casein- und Gelatine-Nährböden erhalten werden.

Die gegenüber Fischeiweiß aktiven Isolate identifizierten wir bis zum Genus und untersuchten mit einem Fischeiweißmedium die Beziehungen zwischen Menge, Lokalisation und zeitlichem Auftreten der Proteolyten. Diese Ergebnisse verglichen wir mit dem Gehalt an flüchtigem Basen-Stickstoff (TVB-N), der sich beim Verderben in der Muskulatur anreichert.

Untersucht wurden ausgenommener Kabeljau und unausgenommener Rotbarsch sowie geräucherter Heilbutt, der bei verschiedenen Temperaturen lagerte. Beim Ganzfisch stammten die Proben aus der Seitenmuskulatur beider Körperhälften bis etwa 10 mm Tiefe sowie aus der Haut, beim Heilbutt aus der Umgebung des Spießloches. Auf einem nährstoffreichen Universalmedium wurden

insgesamt 119 Bakterienpopulationen mit 6664 Kulturen isoliert, unter denen sich 1174 befanden, die in vitro Fischeiweiß angriffen.

Die Differenzierung einschließlich der Unterteilung der Pseudomonaden fand unter Anlehnung an das Klassifizierungsschema n. SHEWAN (1) statt, die Bestimmung des flüchtigen Basen-Stickstoffs durch Wasserdampfdestillation an einer Mischung aus subcutanem, zentralem und perirenalem Muskelgewebe beider Körperhälften der Probefische (2).

Nach Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Nährbodenparameter auf die Proteolytenausbeute führten wir den Nachweis der Fischeiweiß-abbauenden Bakterien wie folgt durch: Ein Universalnährboden, der bis auf einen Peptidgehalt von 0,1 % verdünnt und durch Agarzusatz wieder verfestigt wurde, diente als Basismedium (pH 7,0). Das Eiweiß-Supplement bestand aus hitzegefälltem sarkoplasmatischem Eiweiß aus wäßrigem Magerfischpreßsaft in Form einer dickflüssigen 20 %-igen äthanolischen Suspension. Die mit dem Testmedium gegossenen Schalen wurden mehrere Stunden, ggf. über Nacht, getrocknet. Nach fleckenhaftem Aufimpfen der Kulturmassen aus frischer Anreicherung der ersten Kulturgeneration wurde 10 Tage bei 20°C in feuchter Atmosphäre bebrütet. Kulturen mit einer Aufhellungszone von 1 mm und mehr im Umkreis der Inokula galten als positiv.

Ergebnisse

Es bestand nur eine bedingte Übereinstimmung in den Proteolysekriterien Casein-, Gelatine- und Fischeiweißabbau. 47,8 % der Kulturen waren caseinolytisch, 41,4 % gelatinolytisch und 27,2 % aktiv gegenüber Fischeiweiß. Mit dem Caseinatagar wurden zwar die höchsten Ausbeuten erzielt, doch im Vergleich zu Fischeiweißmedien hatte der Abbau von Milcheiweiß und Gelatine in vielen Fällen nichts mit proteolytischen Vorgängen am Fisch zu tun. Außerdem war bei Gelatine der Endpunkt der Bebrütung schwer festzulegen, da sich die Ausbeuten nach dem 14. Inkubationstag noch um bis zu 30 % erhöhen konnten (nach 25 bis 35 Tagen). Auf Fischeiweiß waren die höchsten Ausbeuten dagegen spätestens nach 12 Tagen erreicht.

Die Hauptmenge der Keime des Kabeljaus entfiel auf Pseudomonaden (2383 Isolate), von denen Species der Gruppe I auf der Haut und in der Muskulatur die höchsten Proteolytenprozentage aufwiesen. Vertreter der Gruppe II kamen zwar wesentlich häufiger vor, waren aber beim Kabeljau seltener proteolytisch. Oft trat auch Moraxella auf, von dem so gut wie kein Stamm proteolytische Aktivität besaß.

Es konnten zwei Feststellungen getroffen werden:

1. bei allen wesentlichen Genera war der Anteil proteolytischer Species in den Populationen der Muskulatur deutlich höher als in den Hautpopulationen, im Mittel doppelt so hoch.
2. die Proteolyten in der Muskulatur gehörten vor allem zu den Pseudomonaden und Alteromonaden, d.h. zu den beweglichen Stäbchen. Von allen beweglichen Stäbchen, die isoliert wurden, fehlten in der Muskulatur nur Species der Vibrio-Aeromonas-Gruppe. Unbewegliche Keime blieben dagegen weitgehend auf die Haut beschränkt.

Der Räucherfisch wies eine andere Verteilung der Proteolyten auf. Hier dominierten Pseudomonaden der Gruppe II hinsichtlich Vorkommen und Proteolytenanteil. Die überwiegend homofermentativen Lactobacillen verhielten sich dagegen durchweg negativ.

Die Populationen der Kabeljaumuskulatur enthielten im allgemeinen mehr Proteolyten als die der Haut; im Mittel waren sie fast doppelt so hoch. In beiden Fällen veränderten sich die Anteile jedoch bis zum 18. Eislagerstag nicht. Danach stiegen sie leicht an und lagen erst später deutlich höher.

Die Proteolytenanteile streuten über die gesamten Lagerzeiträume erheblich. Auf der Haut blieben sie bis zum 18. Lagertag zwar noch zwischen $<1\%$ und 26% , vergrößerten sich aber später bis auf 79% . In der Muskulatur bewegten sie sich bereits am 18. Tag zwischen $<1\%$ und 43% und streuten später zwischen 3% und 86% . Andererseits kamen jedoch besonders auf der Haut nach unterschiedlichen Lagerzeiten (bis 43 Tage) auch gleiche Anteile von z.B. weniger als 6% vor.

Am fangfrischen Fisch lagen die absoluten Proteolytenzahlen der Haut zwischen $10^2/\text{cm}^2$ und mehreren $10^4/\text{cm}^2$.

Beim unausgenommenen ganzen Rotbarsch ließen sich nur die Bakterienfloren der Haut verfolgen, weil die Keimgehalte in der Muskulatur sehr stark schwankten und der Fisch gelegentlich sogar bis über den 14. Lagertag hinaus bakteriologisch negativ war. Auch hier traten zumindest bis zum 14. Tag keine Veränderungen der mittleren Proteolytenanteile der Haut auf.

Beim geräucherten Heilbutt betrug der Proteolytenanteil im Mittel $28,1\%$, wobei auch hier keine Beziehungen zur Lagerzeit bestanden.

TVB-N-Werte spielen bei der chemischen Qualitätsbeurteilung von eislagerndem Frischfisch eine ganz besondere Rolle. Bis zum Erreichen des Grenzwerts für die Genußtauglichkeit des Kabeljaus, der im allgemeinen mit $35 - 40 \text{ mg TVB-N}/100 \text{ g}$ angegeben und meist nach 14 - 16 Lagertagen erreicht wird, stagnierten die Proteolytenprozente in den Populationen von Haut und Muskulatur noch bei unter 20% und besaßen keine Indikatorfunktion, d.h. sie ließen keine Beziehungen zu bestimmten TVB-N-Bereichen erkennen. Erst nach dem Eintreten des signifikanten Verderbs oberhalb von $40 \text{ mg TVB-N}/100 \text{ g}$ wurden plötzlich höhere Mittelwerte gefunden, wenn auch die Einzelwerte noch zur Hälfte bei unter 20% lagen. Eine Proportionalität zwischen bestimmten TVB-N-Werten und Proteolytenanteilen ergab sich auch in diesem oberen Bereich nicht.

Aus dem gewonnenen Zahlenmaterial läßt sich trotz aller Streuungen ein Bild über den allgemeinen Gang der Infektion des Muskelgewebes ableiten. Demnach kommen in den bakteriellen Ausgangsfloren der Frischfischhaut Proteolyten noch in allen isolierbaren Bakterien-Genera mit Ausnahme von Moraxella vor. Proteolyten finden sich hier unter den beweglichen wie auch unbeweglichen Keimen. Beim Durchdringen der Haut tritt dann eine Selektion der Keime ein, indem überwiegend die hoch beweglichen Pseudomonaden und Alteromonaden in die Muskulatur eindringen und die übrigen Keimgruppen zurückbleiben. Gleichzeitig kommt es in der Muskulatur zu höheren Proteolytenanteilen. Diese Selektion beruht offensichtlich auf der Beweglichkeit der Keime und nicht auf einer Zermürbung der Haut durch Proteolyse, denn selbst proteolytische Mikrokokken und Flavobakterien bleiben als unbewegliche Keime auf die Haut beschränkt. PARTMANN (3) stellte fest, daß die Myosepten beim Eindringen der Bakterien in den Fischkörper als Einfallstraßen dienen und das interfibrilläre Hohlraum-

system der Fasern, die den Hauptbestandteil der Muskulatur darstellen, erst später besiedelt wird. Die erste Besiedlungsphase dürfte etwa der Haltbarkeitsspanne entsprechen. In ihr findet nur ein mäßiger Anstieg der TVB-N-Werte statt, und die Proteolyten nehmen noch keine Vorrangstellung ein. Daraus ist zu folgern, daß chemische Veränderungen in dieser Phase noch überwiegend auf dem Abbau löslicher Extraktstoffe des geringen Bindegewebsanteils beruhen. Hieran nehmen noch alle in die Muskulatur eindringenden Bakterien teil.

In der letzten Invasionsphase, die mit dem Angriff auf die Muskelfasern beginnt, stabilisiert sich eine relativ einförmige Bakterienpopulation aus Pseudomonaden und Alteromonaden. In ihr findet eine Favorisierung der Proteolyten statt. Erst in diesem späten Stadium gewinnen die Proteolyten eine besondere Bedeutung, indem sie neue Bakterien-Nährstoffe freisetzen, deren Abbau zum totalen Verderb und zu TVB-N-Werten weit über 40 mg/100 g führt.

Die Gruppe der Proteolyten gehört nach unseren Untersuchungen beim eislagerten Ganzfisch nicht zu den bakteriellen Verderbnisindikatoren, weshalb routinemäßige Proteolytennachweise nicht begründbar sind. Eine spezielle Proteolytenzahl, die innerhalb der Haltbarkeitsspanne ermittelt wird, stellt weder eine brauchbare Alternative zur Gesamtkeimzahl dar, noch unterstützt sie deren Aussagekraft.

ZITIERTE LITERATUR:

- (1) SHEWAN, J.M.; HOBBS, G.; HODGKISS, W.: A determinative scheme for the identification of certain genera of Gram-negative bacteria, with special reference to the Pseudomonadaceae. J.appl.Bact. 23 (1): 379 - 390, 1960
- (2) KARNOP, G.: Die lokale Verteilung flüchtiger Basen (TVB-N) im Gewebe von Ganzfischen während der Eislagerung. Arch.FischWiss. 27 (2): 159 - 169, 1976
- (3) PARTMANN, W.; MALTSCHESKY, N.: Zur Frage der histologischen Veränderungen in der Muskulatur von Süßwasserfischen während der Lagerung. Z.Lebensmittelunters.u.Forsch. 93 (3): 121 - 130, 1951

G. Karnop
Institut für Biochemie und Technologie
Hamburg

Marinierte Lodde - ein mögliches Produkt?

Die Verarbeitung von Lodde in geräucherter Form zu Dauerkonserven sowie zu zucker-salz-gereiften Produkten mit Anchosencharakter ist verschiedentlich demonstriert worden (1). Im Laufe eines Projektes ^{x)} zur Erkundung der Verarbeitungsmöglichkeiten bisher nicht für Nahrungszwecke genutzter Fischarten

^{x)} gefördert durch das Bundesministerium für Forschung und Technologie